

# POLYMORPHISME ENZYMATIQUE DE *TRACHURUS TRACHURUS* (LINNAEUS, 1758) ET *T. MEDITERRANEUS* (STEINDACHNER, 1886) (TÉLÉOSTÉENS, CARANGIDAE) DES CÔTES TUNISIENNES

par

Mohamed BEN SALEM et Mohamed Hedi KTARI (1)

**RÉSUMÉ.** - Nous présentons dans ce travail un catalogue de polymorphismes biochimiques accessibles chez *Trachurus trachurus* et *T. mediterraneus* par électrophorèse en gel d'amidon. La description des zymogrammes des LDH, IDH, MDH, ACP, EST, MOD, GAPDH, PGDH, SDH, GLO, GPI, PGM, ainsi que celle des composants protéiniques majeurs du muscle squelettique permettent de caractériser l'état allélique de 29 locus, dont 22 ont manifesté une activité enzymatique. Nous avons détecté 12 locus diagnostiques présentant des allèles alternatifs dont 10 à activité enzymatique. Bien que les taux d'hétérozygotie sont comparables, les taux de polymorphisme sont plus élevés pour *T. mediterraneus*. La distance génétique et les identités montrent une importante divergence génétique chez les deux espèces.

**ABSTRACT.** - Enzymatic polymorphism of *Trachurus trachurus* (Linnaeus, 1758) and *T. mediterraneus* (Steindachner, 1886) (Teleostei, Carangidae) of Tunisian coast.

In this paper we present a catalogue of the biochemical polymorphism in *Trachurus trachurus* and *T. mediterraneus* detected by electrophoresis in starch gel. The description of the zymograms of LDH, IDH, MDH, ACP, EST, MOD, GAPDH, PGDH, SDH, GLO, GPI, PGM, as well as the main protein components of the skeletal muscle allow us to characterize the allelic status of 29 loci, 22 of which have shown an enzymatic activity. We have detected 12 loci that have alternative alleles, and 10 with an enzymatic activity. Although the heterozygosity rates are comparable, the polymorphism rates are high in *T. mediterraneus*. The genetic distance and the identity show a great genetic divergence between the two species.

**Mots-clés.** - Carangidae, *Trachurus trachurus*, *T. mediterraneus*, MED, Tunisia, Enzymatic polymorphism.

Sur les côtes tunisiennes vivent trois espèces du genre *Trachurus*: *Trachurus trachurus*, *T. mediterraneus* et *T. picturatus*, les deux premières étant beaucoup plus fréquentes que la dernière qui se rencontre surtout au large.

Une première contribution à l'étude des espèces du genre par Ben Salem et Ktari (1981) a mis en évidence une forte ressemblance morphologique entre les espèces des côtes tunisiennes. Pour apporter un complément à l'étude morphologique et biométrique et estimer le degré de différence génétique des deux espèces les plus fréquentes, *T. trachurus* et *T. mediterraneus*, nous avons effectué une étude génétique par électrophorèse enzymatique (sur gel d'amidon). Cette technique permet d'accéder directement à l'organisation génétique des deux espèces et d'en décrire les variations.

(1) Biologie animale, Faculté des Sciences de Tunis, Campus, 1060 Tunis, TUNISIE.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'expérimentation a porté sur 24 spécimens de chaque espèce dont la longueur à la fourche variait de 21,2 à 25,3 cm pour *Trachurus trachurus* et de 19,6 à 26,2 cm pour *T. mediterraneus*.

L'étude enzymatique a porté sur des animaux congelés immédiatement après leur capture; chaque poisson a été disséqué pour en prélever les yeux, le foie, et un morceau du muscle squelettique à l'arrière de la tête et au-dessus de la nageoire pectorale.

L'étude électrophorétique a été réalisée sur gel d'amidon hydrolysé selon la technique de Moretti *et al.* (1957). Les révélations enzymatiques ont été faites selon les techniques de Selander *et al.* (1969) et de Harris (1976). Les techniques de coloration, la composition des différents tampons d'électrophorèse ainsi que les références commerciales des principaux composés chimiques ont été décrites par Pasteur *et al.* (1985). Le tableau I donne la liste des systèmes examinés, ainsi que les tissus et les conditions électrophorétiques dans lesquels ils ont été étudiés. Pour chaque système enzymatique, les locus ont été nommés par des numéros d'ordre croissant du locus codant les allozymes ayant la mobilité électrophorétique la plus cathodique à celui codant les allozymes les plus anodiques. Les allèles de chaque locus ont été désignés par des indices, l'indice de référence "100" étant arbitrairement donné à l'allozyme le plus commun.

Pour déterminer les meilleures conditions expérimentales permettant d'obtenir des résolutions optimales des protéines, nous avons testé un grand nombre de tampons sur les différents organes prélevés. Nous n'avons conservé que les combinaisons qui présentaient un système enzymatique exploitable; nous avons utilisé l'extrait de foie pour étudier les systèmes enzymatiques alpha-GPDH-2, 6PGDH, SDH, SOD-1, SOD-2 et GLO; de muscle pour les systèmes IDHP, MDH, ACP-1, ACP-4, EST-3, EST-4, AAT-2, MOD-1, MOD-2, alpha GAPDH-1, GPI-2, PGM et PMM; de l'oeil pour les systèmes LDH-1, LDH-2, LDH-3.

Au cours de cette étude, nous avons pu vérifier que les fréquences génotypiques observées étaient conformes à celles qui sont attendues selon la loi de Hardy-Weinberg par le test du  $\chi^2$  s'appliquant à des échantillons de petites tailles et nous avons calculé la distance génétique de Nei (1972) entre les deux espèces *T. trachurus* et *T. mediterraneus*, sympatriques en Méditerranée.

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Nous avons regroupé sur le tableau II les données obtenues sur le polymorphisme des deux espèces du genre *Trachurus*. *T. trachurus* et *T. mediterraneus* sont deux espèces bien différenciées génétiquement: sur un total 29 locus, dont 22 à activité enzymatique, 12 locus diagnostiques présentent des allèles alternatifs dont 10 à activité enzymatique: LDH-3, ACP-1, EST-3, MOD-1, MOD-2, AAT-2, Alpha GAPDH-1, Alpha-GAPDH-2, SOD-2 et GPI-2 et 2 locus diagnostiques sans activité enzymatique PMM-0, PMM-4.

Le taux d'hétérogénéité, appelé encore taux d'hétérozygotie (H), correspond à la fréquence moyenne des génotypes hétérozygotes dans la population. Le calcul de ce taux montre qu'il est plus élevé chez *T. mediterraneus*. Le tableau III donne la mesure de l'hétérozygotie moyenne (H) de chaque espèce ainsi que le taux de polymorphisme (P) (Lewontin et Hubby, 1966). Le taux d'hétérogénéité est comparable chez les deux 2 espèces tandis que le taux de polymorphisme est nettement plus élevé chez *T. mediterraneus*. A titre comparatif, Alili *et al.* (1985), chez deux populations de *Microchirus azevia*, signalent que 52% des locus sont polymorphes; Ben Harrat *et al.* (1981) signalent que 48% des locus sont polymorphes chez des populations lagunaires et marines de gobies noirs; Berrebi *et al.* (1985) signalent que le polymorphisme chez les populations de flets est de 19 à 38%.



Tableau I. - Tissus étudiés et tampons utilisés dans l'analyse du polymorphisme des locus chez *Trachurus trachurus* et *T. mediterraneus*. [Studied tissues and used solutions in loci polymorphism analysis for *Trachurus trachurus* and *T. mediterraneus*.]

Enzymes	Locus identifié	Tissu étudié	Tampon électrophorèse
Lactate-déshydrogénases	LDH-1	Oeil	TC 6,7 / TC 6,4
	LDH-2	Oeil	TC 6,7 / TC 6,4
	LDH-3	Oeil	TC 6,7 / TC 6,4
Isocitrate-déshydrogénase	IDHP	Muscle	TC 6,7 / TC 6,4
Malate-déshydrogénase	MDH	Muscle	TC 6,7 / TC 6,4
Phosphatases acides	ACP-1	Muscle	Tris HCL / Borate 8,2
	ACP-4	Muscle	Tris HCL / Borate 8,2
Estérases	EST-3	Muscle	Tris HCL / Borate 8,2
	EST-4	Muscle	Tris HCL / Borate 8,2
Aspartate amino-transférase	AAT-2	Muscle	TC 8,0 / TC 8,0
Malate-déshydrogénases décarboxylase	MOD-1	Muscle	TC 8,0 / TC 8,0
	MOD-2	Muscle	TC 8,0 / TC 8,0
Glycérophosphate-déshydrogénases	$\alpha$ -GAPDH-1	Muscle	TC 8,0 / TC 8,0
	$\alpha$ -GAPDH-2	Foie	TC 6,7 NADP / TC 6,4 NADP
6-Phosphogluconate déshydrogénase	6PGDH	Foie	TC 6,7 NADP / TC 6,4 NADP
Sorbitol-déshydrogénase	SDH	Foie	TC 8,0 / TC 8,0
Superoxyde-dismutases	SOD-1	Foie	TC 8,0 / TC 8,0
	SOD-2	Foie	TC 8,0 / TC 8,0
Glyoxalase	GLO	Foie	TC 8,0 / TC 8,0
Glucose-phosphate-isomérases	GPI-1	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
	GPI-2	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
Phosphoglucomutase	PGM	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
Composants protéiniques majeurs du muscle	PMM-0	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
	PMM-2	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
	PMM-4	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
	PMM-5	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2
	PMM-6	Muscle	TC B 8,7 / Borate 8,2

Pour apprécier les différences observées dans la distribution des fréquences alléliques chez les *Trachurus* étudiés, nous avons calculé l'indice de ressemblance (I) et la distance génétique (D) entre les deux espèces (Nei, 1972). I varie entre 1 (identité totale) et 0 (tous les locus possèdent des allèles différents); similairement D varie entre 0 et l'infini.

Tableau II. - Fréquences alléliques observées chez *Trachurus trachurus* et *T. mediterraneus*.  
 [Allelic frequencies of *Trachurus trachurus* and *T. mediterraneus*.]

Locus	<i>T. trachurus</i>	<i>T. mediterraneus</i>	Locus	<i>T. trachurus</i>	<i>T. mediterraneus</i>
LDH-1 90	0	0,85	6PGDH 70	0	0,02
100	1,00	0,15	80	0	0,08
LDH-2 100	1,00	1,00	90	0,02	0,04
LDH-3 90	0	0,36	100	0,67	0,86
100	1,00	0	105	0,31	0
105	0	0,64	SDH 80	0,19	0,08
IDH 100	0,75	1,00	90	0	0,06
120	0,25	0	100	0,77	0,86
MDH 100	1,00	1,00	120	0,04	0
ACP-1 80	0	1,00	SOD-1 100	1,00	1,00
100	1,00	0	SOD-2 90	0	1,00
ACP-4 90	0	0,06	100	1,00	0
100	0,90	0,94	GLO 100	1,00	1,00
110	0,10	0	GPI-1 80	0,04	0
EST-3 80	0	0,02	90	0	0,54
90	0	0,98	100	0,96	0,46
100	0,46	0	GPI-2 70	0	0,91
110	0,54	0	80	0,33	0
EST-4 95	?	0,13	90	0	0,09
100	?	0,83	100	0,63	0
110	?	0,04	120	0,04	0
AAT-2 90	0	0,02	PGM 70	0	0,02
100	0,73	0,96	90	0,02	0,98
120	0,27	0,02	100	0,98	0
MOD-1 100	1,00	0	PMM-0 0	1,00	0
105	0	1,00	100	0	1,00
MOD-2 100	0	1,00	PMM-1 100	1,00	1,00
105	1,00	0	PMM-2 100	1,00	0,82
$\alpha$ GPDH-1 90	0	0,50	110	0	0,18
100	1,00	0	PMM-3 100	1,00	0,92
110	0	0,50	110	0	0,08
$\alpha$ GPDH-2 90	0	0,02	PMM-4 0	1,00	0
95	0	0,98	100	0	1,00
100	0,90	0	PMM-5 100	1,00	1,00
120	0,10	0	PMM-6 100	1,00	1,00

L'identité protéique chez *T. trachurus* et *T. mediterraneus* est de 0,500 ce qui correspond à une distance génétique standard de 0,693.

Des estimations de distances génétiques des locus analogues ont été obtenues par la même technique chez d'autres Téléostéens, entre des unités

Tableau III.- Fréquence des génotypes hétérozygotes chez *Trachurus trachurus* et *T. mediterraneus*. Hétérozygotie moyenne: *T. trachurus*: 0,108; *T. mediterraneus*: 0,116. Taux de polymorphisme: *T. trachurus*: 0,375 (10/28); *T. mediterraneus*: 0,517 (15/19). [Frequency of the heterozygotic genotype in *Trachurus trachurus* and *T. mediterraneus*. Mean heterozygosity: *T. trachurus*: 0,108; *T. mediterraneus*: 0,116. Rate of polymorphism: *T. trachurus*: 0,375 (10/28); *T. mediterraneus*: 0,517 (15/19).]

Locus	<i>T. trachurus</i>	<i>T. mediterraneus</i>
LDH-1	0	0,22
LDH-2	0	0
LDH-3	0	0,46
IDH	0,37	0
MDH	0	0
ACP-1	0	0
ACP-4	0,18	0,11
EST-3	0,24	0,02
EST-4	?	0,29
AAT-2	0,39	0,08
MOD-1	0	0
MOD-2	0	0
$\alpha$ GPDH-1	0	0,48
$\alpha$ GPDH-2	0,09	0,04

Locus	<i>T. trachurus</i>	<i>T. mediterraneus</i>
6PGD	0,44	0,25
SDH	0,35	0,25
SOD-1	0	0
SOD-2	0	0
GLO	0	0
GPI-1	0,08	0,50
GPI-2	0,44	0,15
PGM	0,40	0,04
PMM-0	0	0
PMM-1	0	0
PMM-2	0	0,29
PMM-3	0	0,15
PMM-4	0	0
PMM-5	0	0
PMM-6	0	0

taxinomiques opérationnelles équivalentes. Il s'agit également d'espèces écologiquement et morphologiquement proches posant des problèmes systématiques semblables à ceux des *Trachurus*. Chez les espèces du genre *Mugil*, I varie entre 0,470 et 0,710 et D varie entre 0,750 et 0,343 (Autem et Bonhomme, 1980). Chez les espèces du genre *Solea*, les valeurs de I et D entre *Solea vulgaris* et *Solea aegyptiaca* varient respectivement de 0,7209 à 0,8604 et de 0,3272 à 0,1504 (Quignard *et al.*, 1982). Les distances génétiques (D) et les identités (I) entre espèces appartenant à un même genre sont donc comparables à celles que nous avons mises en évidence chez les *Trachurus* étudiés. Nous retiendrons surtout, de cette comparaison, une importante divergence génétique chez ces deux espèces (plus de la moitié des locus structuraux ont fixé au moins une mutation).

L'indice de liaison génétique chez les deux espèces du genre *Trachurus* est de 15,673; cet indice est à comparer avec celui qui a été trouvé chez les espèces du genre *Mugil* (Mugilidés): 4 à 10,64 (Autem et Bonhomme, 1980).

## CONCLUSION

L'électrophorèse a permis d'apprécier le polymorphisme enzymatique et la distribution des fréquences alléliques. Cette technique, très largement utilisée pour l'étude des Insectes (Ayala, 1972), des Mammifères (Selander *et al.*, 1969) et des Poissons (Callegarini *et al.*, 1976) a permis une nouvelle approche du problème posé par les *Trachurus*.

L'isolement reproducteur, et donc le statut spécifique des deux espèces du genre *Trachurus* des côtes tunisiennes, est confirmé puisque nous avons trouvé un grand nombre de locus diagnostiques. Dans d'autres secteurs géographiques, la reconnaissance des espèces par la même technique reste toujours possible; c'est ainsi



que Dobrovoltov (1977) a utilisé les lactate-déshydrogénases et les estérases pour distinguer les deux espèces *T. trachurus* et *T. mediterraneus* de la Mer Noire. Pour les deux espèces des côtes tunisiennes, nous retiendrons surtout un taux de polymorphisme assez élevé et un polymorphisme plus important chez *T. mediterraneus*. Cela n'est pas étonnant puisque les deux espèces des côtes tunisiennes proviennent de deux groupes frères différant du point de vue de leur relation phylogénétique, comme nous l'avons montré (Ben Salem, 1988).

Des conséquences plus intéressantes seront déduites si nous étudions l'hétérogénéité interpopulationnelle en nous adressant à des populations géographiquement éloignées pour obtenir des populations de composition génétique suffisamment différentes.

**Remerciements.** - La partie expérimentale de ce travail a été faite au Laboratoire de génétique de l'Institut des Sciences de l'Évolution, Université de Montpellier II (USTL). Les auteurs remercient les Dr. M. Autem, F. Bonhomme et P. Berrebi pour leur aide dans l'interprétation des résultats. Ils remercient vivement Mme le Dr. M.L. Bauchot et M. le Pr. J. Daget (Muséum national d'Histoire naturelle de Paris) qui les ont aidés dans la réalisation de ce travail. Ce travail a été financé par la Faculté des Sciences de Tunis, la CEE et le Laboratoire de Génétique de l'Institut des Sciences de l'Évolution, USTL, Montpellier. Les auteurs remercient tous ceux qui les ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## RÉFÉRENCES

- ALILI D.E., PASTEUR N. & J.Y. MARINARO, 1985. - Polymorphisme enzymatique de *Microchirus azevia* (Poissons, Téléostéens, Soléidés) de la côte algérienne. *Cah. Biol. Mar.*, 26: 355-358.
- AUTEM M. & F. BONHOMME, 1980. - Eléments de systématique biochimique chez les Mugilidés de la Méditerranée. *Biochem. Syst. Ecol.*, 8: 305-308.
- AYALA F.J. & J.R. POWEL, 1972. - Allozymes as diagnostic characters of sibling species of *Drosophila*. *Proc. natl. Acad. Sci., USA*, 69(5): 1094-1096.
- BEN HARRAT K., QUIGNARD J.P. & N. PASTEUR, 1981. - Les Gobies noirs (*Gobius niger* Linné, 1758) de la côte méditerranéenne française; variation du polymorphisme enzymatique des populations lagunaires et maritimes. *Cybium* 5(3): 29-33.
- BEN SALEM M., 1988. - Taxinomie numérique des espèces du genre *Trachurus* Rafinesque, 1810 (Poissons, Téléostéens, Carangidae). *Cybium*, 12(1): 45-58.
- BEN SALEM M. & M.H. KTARI, 1981. - Présentation des espèces du genre *Trachurus* Rafinesque, 1810 et *Caranx* Lacépède, 1801 (Poissons, Téléostéens, Carangidae) des côtes tunisiennes: morphologie et biologie. *Bull. Off. natl. Pêches*, Tunisie, 4(1): 155-168.
- BERREBI P., VIANET R., AGNÈSE J.F., QUIGNARD J.P. & N. PASTEUR, 1985. - Variation génétique et morphologique de quelques populations de flets: *Platichthys flesus* *flesus* des côtes méditerranéennes et atlantiques françaises. *Biochem. Syst. Ecol.*, 13(1): 55-61.
- CALLEGARINI C., BASAGLIA F. & A. VENDEMIATI, 1976. - Aspetti del polimorfismo intraspecifico degli isoenzimi della lattico deidrogenasi (LDH) di *Trachurus trachurus* (Teleostei, Carangidae). *Ann. Univ. Ferrara. Anat. comp.*, 3(22): 241-245.
- DOBROVOLOV I., 1977. - Etude électrophorétique des protéines de quelques représentants de la famille des Carangidae en liaison avec la différenciation inter et intra-spécifique. *Isv. Inst. Rybn. Resur. Varna*, 15: 35-46.
- HARRIS H., 1976. - Enzyme polymorphism in man. *Proc. roy. Soc., Lond. B*, 164: 298-310.
- LEWONTIN R.G. & J.L. HUBBY, 1966. - A molecular approach to the study of genic heterozygosity in natural populations. I. The number of alleles and different loci in *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, 54: 557-594.
- MORETTI J., BROUSSIER G. & M.F. JAYLE, 1957. - Réalisation technique et premières applications de l'électrophorèse sur gel d'amidon. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 39: 593-605.
- NEI M., 1972. - Genetic distance between populations. *Amer. Nat.*, 106(949): 283-292.

- PASTEUR N., AUTEM M., PICHOT P. & M. GOUCHA, 1985. - Structure génétique de la sole *Solea vulgaris* Quensel, 1806 (Téléostéens, Soléïdés). Premier catalogue de polymorphismes biochimiques accessibles par l'électrophorèse en gel d'amidon. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit. Paris*, 47(1,2): 37-54.
- QUIGNARD J.P., PASTEUR N. & S. SHEHATA, 1982. - Biosystématique du complexe *Solea* du Golfe du Lion (Poisson, Téléostéens, Soléïdés). Génétique, morphologie et étude méristique. *Rev. Trav. Inst. Pêches marit. Paris*, 46(4): 273-284.
- SELANDER R.K., HUNT W.G. & S.Y. YANG, 1969. - Protein polymorphism and genic heterozygosity in two European subspecies of the house mouse (*Mus musculus*). *Evolution*, 23: 379-390.

Reçu le 18.04.1991.

Accepté pour publication le 04.12.1991.